

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-226915

(43) 公開日 平成4年(1992)8月17日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/20	A E D	8413-4C		
	A B E	8413-4C		
	A B F	8413-4C		
	A B G	8413-4C		
	A B N	8413-4C		

審査請求 未請求 請求項の数10(全 5 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平3-116466	(71) 出願人	590002013 ソシエテ デ プロデュイ ネットスル ソ シエテ アノニム スイス国ブレイ、ビー オー ボックス 353
(22) 出願日	平成3年(1991)5月22日	(72) 発明者	ミシエル ギュイシャルダン スイス国ブレイ、ブド デ ラ フォレ、 32
(31) 優先権主張番号	9 0 1 0 9 8 8 3 0	(72) 発明者	ミシエル リゴウ フランス国リモジエ、リュ ビゼ、5
(32) 優先日	1990年5月23日	(74) 代理人	弁理士 浅村 皓 (外3名)
(33) 優先権主張国	オーストリア (A T)		

(54) 【発明の名称】 抗炎症剤

(57) 【要約】

【目的】 本発明はステアリドン酸を使用する哺乳動物の炎症原因の疾患の予防又は治療用の医薬組成物に関する。

【構成】 ステアリドン酸の役割は5-リポキシゲナーゼの作用によりアラキドン酸から形成されるロイコトリエンおよびヒドロキシエイコサテトラエン酸の生合成を阻害することである。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ステアリドン酸又はその医療的に受容可能な誘導体を活性成分として含有することを特徴とする、哺乳動物の炎症原因の疾患予防用および治療用医薬組成物。

【請求項2】 アラキドン酸の酸素代謝を抑制する1つ以上の多価不飽和脂肪酸又は1つ以上のその酸の1つ以上の医薬的に受容可能な誘導体を併用する、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項3】 エイコサペンタエン酸および/又はドコサヘキサエン酸を併用する、請求項2記載の医薬組成物。

【請求項4】 γ -リノレン酸および/又はジホモ γ -リノレン酸を併用する、請求項2記載の医薬組成物。

【請求項5】 クロフサスグリ種子油又は魚油が強化された濃縮状態がある、請求項2記載の医薬組成物。

【請求項6】 経口の、直腸の、腸溶性の又は腸管外の投与に適する形態である、請求項1から5の何れか1項に記載の医薬組成物。

【請求項7】 局所性投与に適した剤形である、請求項1から5の何れか1項記載の医薬組成物。

【請求項8】 1日/0.05~10gのステアリドン酸又はその医薬的に容認可能な誘導体を供する剤型である、請求項1記載の組成物。

【請求項9】 有効量のステアリドン酸又はその医薬的に受容可能な誘導体を、任意にアラキドン酸の酸素代謝を抑制する1つ以上の多価不飽和脂肪酸又は1つ以上のその酸の1つ以上の医薬的に受容可能な誘導体とを併用して疾患動物の投与することを特徴とする、哺乳動物の炎症原因の疾患の予防および治療方法。

【請求項10】 1日/0.05から10gのステアリドン酸又はその医薬的に受容可能な誘導体を投与する、請求項9記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は抗炎症医薬組成物におけるステアリドン酸の使用に関する。ステアリドン酸(SA、C18:4 Δ 6, 9, 12, 15)はn-3系列の多価不飽和脂肪酸である(命名はメチル基から最初の二重結合の位置によって示す)。生物体によって利用されるためには、n-3系列の原点であり、かつ大部分の摂取食物中にある α -リノレン酸(ALA、C18:3 Δ 9, 12, 15)は、酵素 Δ 6デサチュラーゼにより不飽和化してSAに代謝されねばならない。この酵素の活性は弱く、加齢によってそして或種の病気の後に減少することは知られている。

【0002】例えば、喘息のようなアレルギー型、そしてオデキ、乾癬、湿疹のような皮膚型、又はリウマチ型の炎症作用、および例えば膵性線維症のような外傷、ショック状態又は病変に重要な関与をする物質の中

(2)

特開平4-226915

2

で、ロイコトリエンは主に細胞膜から放出されるアラキドン酸(AA、C20:4 Δ 5, 8, 11, 14)のロキシゲナーゼによる酸化によって生成される。更に詳述すると、多形核のヒト白血球はAAをロイコトリエンに変換し、更に特別には5-ロキシゲナーゼによって安定な(SS, 12R)-5, 12-ジヒドロキシ-6, 14-シス-8, 10-トランス-エイコサテトラエン酸(LTB4)に変換することは知られている。LTB4は種々の炎症作用に主要な関与を演じている。

【0003】

【従来の技術】この理由のために、5-ロキシゲナーゼのインヒビターを開発することによって炎症の要因を減ずる試みが行なわれた。例えばLee, T. H. 等によって、「J. Clin Invest」74巻、1922-1933頁(1984)に、エイコサペンタエン酸(EPA、C20:5 Δ 5, 8, 11, 14, 17)のようなn-3系列の或種の高級脂肪酸はロイコトリエンの合成を調節することができ、かつ炎症の状態を改善できることが記載してある。このことは又、n-6系列の脂肪酸、ジホモ γ -リノレン酸(DHLA、C20:3 Δ 8, 11, 14)についても証明された(例えば、Tate, G等による、「J. Rheumatol」16巻729-733頁、(1989年)参照)。SAはロイコトリエンの生合成を阻害する性質を有することを本発明者は見出した。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明は哺乳動物の炎症原因の疾患、更に特別にはアレルギー性疾患、皮膚疾患、リウマチ性疾患および外症、ショック状態そして病変から生ずる疾患の予防および治療を目的とする、医薬組成物を調製するためにステアリン酸、又は医薬的に受容可能なその誘導体の使用に関する。本発明において、医薬的に受容可能な誘導体は脂肪酸に相当する塩、エステル又はアミドである。望ましい塩はアミノ酸、例えばアルギニンの塩である。望ましいエステルは例えばモノ、ジ、トリグリセリドおよびリン脂質である。

【0005】

【課題を解決するための手段】特定の実施態様では、AAの酸素代謝を阻害する1つ以上の多価不飽和脂肪酸とSAは併用される。この不飽和脂肪酸はN3系列の5-ロキシゲナーゼ阻害性多価不飽和脂肪酸、例えばEPA、ドコサヘキサエン酸(DHA、C22:6 Δ 4, 7, 10, 13, 16, 19)、又はN-6系列の5-ロキシゲナーゼ阻害性多価不飽和脂肪酸、例えばDHLA又はその前駆物質の γ -リノレン酸(GLA、C18:3 Δ 6, 9, 12)、又は上記のような型の脂肪酸の医薬的に受容可能な誘導体である。この併用の好ましい実施態様はクロフサスグリ種子油由来のGLAおよびSAを本質的に含有する濃縮物、例えばEPA第0399417号明細書の例1、2により調製した

3

濃縮物を使用する点で特徴がある。この併用の他の好ましい実施態様は魚油由来のSA、EPAおよびDHAを本質的に含有する濃縮物、例えばEPA第0399417号明細書の例3の第1節により調製した濃縮物を使用する点で特徴がある。

【0006】本発明により使用するSA又は多価不飽和脂肪酸又はそれ等の誘導体の混合物は酸化防止剤、例えばアスコルビル パルミテート、トコフェロール、レシチンの存在下のアスコルビン酸のような酸化防止剤の混合物により酸化を防止するのが有利である。

【0007】医薬組成物は投与方法により、例えば経口の、腸溶性の直腸の、腸管外の又は局所の投与により種々の方法で製剤化することができる。例えば医薬組成物をカプセル、ゼラチン被覆をした錠剤、座薬又はシロップとして製剤化することができる。腸溶性の又は腸管外の投与のため、組成物は化学的におよび物理的に安定化した、無加熱の無菌溶液又はエマルジョンとして製剤化される。特殊な局所外用薬の場合、例えば、オデキ、湿疹又は乾癬型の皮膚の炎症を治療するために、組成物を例えば軟膏、膏薬、クリーム又はローションとして製剤化することができる。投与量は治療する疾患の型と程度により異なる。それは、1回の投与で又は好ましくは2から3回に分けた投与で1日当り総量で0.05から10gのステアリン酸の量とすることができる。

【0008】

【実施例】次例により本発明を更に具体的に説明する。例中、部および%は特に断わらない限り、重量基準とする。

【0009】例 1

ロイコトリエンの生合成に及ぼすSAの効果

ロイコトリエンの生合成に及ぼすSAの効果を研究するため、分離したヒト白血球をSAと共に温置し、EPAおよびDHLAとの比較のために、AAに5-リボキシゲナーゼを作用させて得た代謝生成物を二次元薄層クロマトグラフィ(TLC)により同定し、高性能液体クロマトグラフィ(HPLC)により定量的分析する。AAとSAの代謝を追求するため、C₁の位置にC₁₄で識別したこれ等の脂肪酸で若干の実験を行なった。

【0010】1. 実験条件

1. 1 細胞サスペンションの調製

献血前少くとも10日間薬剤を使用していない正常な献血者の血液を、抗凝血物質としてクエン酸、クエン酸三ナトリウムおよびデキストロースの混合物に入れた。200Gで15分間遠心分離した後、血小板の多い血漿を除去し、残留する血液画分を改修し、3%のデキストラン250と0.9%の食塩を含有する水溶液の0.5容量をそれに加えた。赤血球は環境温度で約90分間放置して沈降させ、その後上澄液を回収し、80Gで15分間遠心分離する。得た沈降物は約 2×10^6 の細胞に相当し、次に1mlの蒸留水で15秒間、再懸濁し、その後

(3)

特開平4-226915

4

1mlの2倍濃縮のTyrode/II EPE溶液を添加して再び等モル濃度とする。次にサスペンションを60Gで10分遠心分離し、白血球の沈降物を回収し、ついで2mM(ミリモル/リットル)のカルシウムを含有するTyrode/II EPE溶液で再懸濁する。白血球をイオン泳動性カルシウムA23187($1 \mu M$)、AA($20 \mu M$)で37℃、10分間刺激した後、それ等を下記に示す量の脂肪酸(任意にSA又はAAの1位にC14で標識をした)により37℃で30分間温置する。2ナノモルの13-ヒドロキシオクタデカジエン酸(13-HODE)(リノレン酸に大豆リボキシゲナーゼを作用させて得る)および2ナノモルのプロスタグランジンB₂(PGB₂)を含有するエタノールで、サスペンションの量に比し3倍の容量のエタノールにより、培養を終結させる。脂質はサスペンションの容量の6倍量のクロロホルムで(エタノール無し)抽出する。13-HODEおよびPGB₂は定量分析の標準として使用する。

【0011】1. 2 モノヒドロキシ化脂肪酸の分析
抽出した脂質をシリカゲルGのプレートで二次元薄層クロマトグラフィにより分離する。モノヒドロキシ化脂肪酸を第1次元でヘキサン、ジエチルエーテルおよび氷酢酸の59:40:1の容量比の溶媒混合物により展開し、ジヒドロキシ化脂肪酸はプレートの初めに残留する。放射能検出器で識別したこれ等のモノヒドロキシ化脂肪酸を検出し、13-HODEと共にプレートから回収し、ジエチルエーテルで抽出し、ついで窒素下で溶媒を蒸発させた後、逆相HPLCによりメタノールとpH3の酢酸水の73:27の容量比の溶離溶媒混合物で分離する。それ等を波長234nmのUV分光法により検出し、13-HODE標準品との比較によりそれ等全てが $3 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$ の同一の比吸収係数を有するという仮説を基礎として定量化する。

【0012】1. 3 ジヒドロキシ化脂肪酸の分析
プレートの初めの部分に残留するジヒドロキシ化脂肪酸は第二次元で、ヘキサン、ジエチルエーテルおよび氷酢酸の25:74:1の容量比の溶媒混合物を使用して、一次元と垂直に展開する。それ等の検出、回収、抽出、分離および定量分析は上記に記載したと同様な方法で行ない、但しHPLCに使用する溶離溶媒混合物はメタノールおよびpH3の酢酸水溶液の66:34の容量比の混合物である。PGB₂は、それ等のそれぞれの最高UV吸収によるジヒドロキシ化脂肪酸の定量値の標準として使用する(波長270nm, PGB₂およびジヒドロキシ誘導体の吸光はそれぞれ 2.8×10^4 および $5 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$)。

【0013】2. 結果

アラキドン酸(AA)(シグマ・ケミカル・カンパニー、セントルイス、Mo. /米国)は対照として使用する。即ち白血球は他の脂肪酸と培養しない。白血球で培

(4)

特開平4-226915

5

養した脂肪酸は、EPA第0399417号明細書に従ってクロフサスグリ種子油の精製した形態の油から得たステアリドン酸(SA)、エイコサペンタエン酸(EPA)(シグマ・ケミカル・カンパニー)およびジホモヘリノレン酸(DHLLA)(シグマ・ケミカル・カンパニー)である。5-ヒドロキシエイコサテトラエン酸(5-HETE)(ケーマンケミカル Ann Arbor Mi./米国)、最高波長(λ):234nm、保持時間(Rt):42.69分、5S, 12S(E, Z, E, Z)-ジヒドロキシエイコサテトラエン酸(di-HETE)(M. Guichardant等による、「Biochem. J.」256巻、879-883頁、1988年)、 λ :259.268および279nm、Rt:29.96分、5S, 12R(Z, E, E, Z)-5, 12-ジヒドロキシ-6, 14-シ*

6

*ス-8, 10-トランス-エイコサテトラエン酸(LTB4)(ケーマンケミカル)、 λ :261.271および282nm、RT:27.46分、LTB4のA異性体、5S, 12R(E, E, E, Z)-LTB4(M. Guichardant等、「Biochem. J.」256巻、879-883頁、1988年)、Rt:21.46分およびLTB4のB異性体、5S, 12S(E, E, E, Z)-LTB4(M. Guichardant等、「Biochem. J.」256巻、879-883頁、1988年)、RT:24.27分。得た代謝量はピコモル/10⁶白血球で示し、n分析の5つの実験の平均で表わす。有意の程度Pは対照に関する試験tによって決定する。結果を次表に示す。

【0014】

【表1】

AAにより刺激された白血球を増強した脂肪酸	培養した細胞の濃度 μ m	n	代謝生成物の量、ピコモル/10 ⁶ 白血球				
			5-HETE	LTB4	LTB4 A異性体	LTB4 B異性体	DI-HETE
SA	10	4	8880	10220	2670	2760	700
			--	P<0.02	--	--	--
SA	20	6	7030	6480	2070	2200	510
			P<0.05	P<0.01	P<0.01	P<0.05	--
EPA	20	4	5920	6030	2180	2730	510
			P<0.01	P<0.01	P<0.05	--	--
DHLLA	20	3	5350	2140	770	780	188
			P<0.01	P<0.01	P<0.02	P<0.05	P<0.01
対照	0	6	9080	17770	4080	4190	720

凡例 --: 有意でない

【0015】SA、n-3系列の多価不飽和脂肪酸はヒト白血球の5-リボキシゲナーゼによりロイコトリエンになるAAの代謝に効果を有することを上記の結果ははっきりと示している。それは5-HETEおよびD1-HETEの生成を約25%まで、そしてB4ロイコトリエンの生成を約50%迄、即ち同一濃度(20 μ m)のn-3系列の多価不飽和脂肪酸であるEPAに匹敵し得る水準まで減ずる。然し、その活性はジホモヘリノレン酸、N-6系列の多価不飽和脂肪酸の活性ほど強く無く、それは同じ濃度(20 μ m)でB4ロイコトリエンの生成を約80%迄、そして5-HETEの生成を約40%まで阻害する。その効果は又、そのヒドロキシル化代謝生成物のどれかに起因することができ、それは標識したSAから検出された。

【0016】例2から5

2. クロフサスグリ種子油から得た250mgのSAを含む、経口投与用のゼラチンカプセルを調製する。
3. 魚油から得た250mgのSAを含む、経口投与用のゼラチンカプセルを調製する。
4. 80%のGLAおよびクロフサスグリ種子油から得た15%のSAを含む脂肪酸混合物の500mgを含む経口投与用のゼラチンカプセルを調製する。
5. 16%SA、35%EPAおよび魚油由来の39%DHAを含む脂肪酸混合物の500mgを含む経口投与用のゼラチンカプセルを調製する。

【0017】例6から9

局所用である次の組成物を調製する。

6. 撥水性膏薬

SA

微粉状ポリエチレン

ミリスチン酸イソプロピル

7. 撥水性軟膏

SA

%

5

10

85

%

1

(5)

特開平 4-226915

γ	δ
カプリン酸、カプリル酸およびステアリン酸のトリグリセリド	40
カプリン酸およびカプリル酸のトリグリセリド	30
ワセリン	20
ワセリン油	9
8. <u>クリーム</u>	<u>%</u>
SA	0.5
セチルアルコール、20モルのエチレンオキシドを エトキシ化したセチルアルコール、モノステアリン 酸グリセロール	6
カプリン酸およびカプリル酸のトリグリセリド	15
プロピレングリコール	10
水	68.5
9. <u>ローション</u>	<u>%</u>
SA	0.1
エタノール	50
プロピレングリコール	49.9

上記の例 6 から 9 の組成物を調製し、光の入らない不活性雰囲気中に貯蔵する。

フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁵

A 61 K 31/20

識別記号

ADA

庁内整理番号

8413-4C

FI

技術表示箇所